

Gordon A. Toby

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

(Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe)

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG
DER TUBERKULOSE DURCH EINE KOMBINATIONSTHERAPIE MIT
INHASAN, NISIN UND KOBALT

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

vorgelegt von

GORDON A. TOBY

Tobago
(Trinidad)
F. W. J.

1960



Dekan: Prof. Dr. Leicher
Referent: Priv.-Doz. Dr. Carlson
Korreferent: Prof. Dr. H. Kliewe
Tag der mündlichen Prüfung: 26.3.1960

Datum des Diploms 26. MRZ. 1960

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
B. Die tuberkulozide und tuberkulostatische Wirkung des Inhasans	4
C. Der antibakterielle Wirkstoff Nisin	6
D. Die tuberkulozide und tuberkulostatische Wirkung des Kobalts	8
E. Methodik der eigenen Versuche	10
F. Versuchsergebnisse	11
G. Diskussion und Besprechung der Versuchsergebnisse	17
H. Zusammenfassung	22
Lebenslauf	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554226_0018

A. EINLEITUNG

Die ersten Versuche einer wirksamen Chemotherapie der Tuberkulose fallen in das Jahr 1940. In diesem Jahr konnte Levaditti zeigen, daß dem Diaminodiphenylsulfon eine hemmende Wirkung auf das Wachstum von Tuberkelbakterien zukommt (51). Etwa um die gleiche Zeit führte Domagk den Nachweis, daß die Sulfathiodiazole und das Sulfathiazol das Wachstum von Tuberkelbakterien hemmen. Der entscheidende Einbruch gelang aber erst mit den von Mietzsch und Klarer dargestellten und von Domagk im Tierexperiment ausgewerteten Thiosemikarbazon des p-Acethylaminobenzaldehyds (Conteben) (19, 20).

Inzwischen war es Waksman gelungen, durch die Isolierung des Streptomycins aus Actinomyceten Arten (*Streptomyces griseus*) ein Antibiotikum aufzufinden, das noch in Verdünnungen von 1:1 Mill. das Wachstum von Tuberkelbakterien in der Kultur zu hemmen vermochte (23, 71). Eine ähnliche hohe Wirksamkeit in vitro zeigte die p-Aminosalicylsäure (PAS) (50). Für die Beurteilung der Wirksamkeit der einzelnen Chemotherapeutika und Antibiotika hat sich die experimentelle Tuberkulose bei Meerschweinchen besonders bewährt. Die Versuche wurden unter gleichbleibenden Bedingungen durchgeführt und mit der Therapie häufig erst dann begonnen, wenn bei den Tieren in der Leber, Milz oder Lunge bereits Tuberkel nachgewiesen werden konnten. In einigen Fällen hat es sich jedoch gezeigt, daß aus einer hohen Bakteriostase in vitro nicht immer eine gute Wirksamkeit im Tierversuch abgeleitet werden kann. Dies trifft besonders für PAS zu, die in der Kultur eine Wirksamkeit gegenüber den Tuberkelbakterien von 1:2 Mill. besitzt. Im Tierversuch ist dagegen diese Verbindung völlig unwirksam. Dies beruht darauf, daß im Organismus die PAS durch Acetylierung der OH- und Aminogruppe und durch Abbau in der Leber inaktiviert wird (51). Die Thiosemicarbazone (Conteben), deren Wirksamkeit in der Kultur bei 1:500 000 liegt, sind jedoch in der Lage, die Generalisation der Tuberkulose unter dieser Therapie aufzuhalten (19). Ein ganz anderes Verhalten zeigt das in vitro bis 1:50 Mill. wirksame Isonicotinsäurehydrazid (INH) (21, 25, 36). Mit dieser Verbindung läßt sich bei einer Dauertherapie eine Vernichtung der Tuberkelbakterien in den Lymphknoten erreichen. Diese Ergebnisse zahlreicher tierexperimenteller Untersuchungen mit Chemotherapeutika sowie Antibiotika gegenüber der Tuberkulose waren der Ausgangspunkt hoffnungsvoller Erwartungen und zum Teil auch spekulativer Betrachtungen. Sie führten dazu, daß von verschiedenen Seiten die Tuber-

kulose unter Verkenennung der initialen Reaktionen des Gewebes und der sich ausbildenden Resistenz des Erregers nicht mehr als ein ernstes Problem angesehen wurde. Diese beiden Erscheinungen, die trotz sämtlicher Fortschritte auf dem Gebiet der Tuberkulose-Behandlung den Optimismus immer wieder gedämpft haben, lassen sich jedoch auf ein Mindestmaß beschränken. An erster Stelle der hierzu notwendigen Maßnahmen steht die Frühdiagnostik und die damit verbundene Frühbehandlung der Tuberkulose. Nur durch sie kann erreicht werden, daß eine Nekrose des Gewebes vermieden und einer weiteren Ausbreitung der Tuberkulose vorgebeugt wird. Die Knochen- und Nierentuberkulose sowie andere Formen der extrapulmonalen Tuberkulose lassen sich auf diese Weise weitgehend verhindern oder sind wesentlich besser therapeutisch zugänglich geworden.

Die heutige Tuberkulose-Behandlung im Rahmen der Frühdiagnostik stützt sich ausschließlich auf chemotherapeutische und antibiotische Mittel. Ihre Anwendung erfolgt allein oder in Kombination mit anderen Chemotherapeutica bzw. Antibiotica. Eine längere Therapie und besonders eine vielfach unsachgemäße Dosierung dieser Mittel in nicht ausreichender Konzentration am Ort des Infektes führt zu resistenten Tb.-Bakterien, deren Resistenz sogar bei wahlloser Anwendung mehrerer Therapeutica gegenüber sämtlichen eingesetzten ausgeprägt sein kann. Die Folge ist, daß der Bedeutung resistenter Tuberkelbakterienstämme eine wachsende Aufmerksamkeit geschenkt wird, weil sowohl Streptomycin, PAS und selbst INH-resistente Stämme noch virulent sind (38). Die Streptomycin- und PAS-resistenten Stämme besitzen nach den bisherigen Untersuchungen die volle Virulenz wie normale Tb.-Bakterienstämme (38). Bei den INH-resistenten Tb.-Stämmen ist ein gewisser Virulenzverlust festzustellen, weil man, um ein Meerschweinchen tödlich zu infizieren, größere Mengen an Tb.-Bakterien benötigt (2, 27, 59, 60). In diesem Zusammenhang ist weiterhin zu erwähnen, daß im Gegensatz zu normal empfindlichen Tb.-Stämmen es mit INH-resistenten gelingt, was sonst nur mit bovinen Stämmen möglich ist, eine tödliche Infektion beim Kaninchen zu setzen (38). Es liegt also offenbar hierbei eine biologische Umwandlung des Typus humanus vor. Um die Resistenzbildung zu verhüten, darf deshalb nicht unsystematisch behandelt werden und vor allem nicht mit PAS oder Streptomycin therapeutisch begonnen werden, sondern immer mit den wirksamsten INH-Präparaten. Nach unseren heutigen Erfahrungen muß man jedoch spätestens nach einem Vierteljahr mit dem Auftreten resistenter Stämme rechnen.

Diese schon frühzeitigen Erkenntnisse über eine relativ kurzfristige Resistenzentwicklung in den Bakterienpopulationen bei der INH-Therapie sowohl in vitro (26, 68) als auch in vivo (74, 81) ließen bald die Empfehlung zur INH-Kombinationstherapie aufkommen, wobei je nach Anschauung der kombinierten INH-Streptomycin- oder INH-PAS-Therapie der Vorzug gegeben wird (1, 17, 45, 62). Ein synergistischer Effekt ließ sich auch durch INH und Aristamid erzielen (28). Zweifellos wird durch die Kombinationstherapie die Resistenzbildung in ähnlicher Weise hinausgeschoben, wie es Ehrlich schon 1913 für die Arzneifestigkeit postuliert hat (22). Sie wird keinesfalls im Prinzip vermieden, was mit der Aufdeckung eines jeden neuen Chemotherapeuticums überraschender- und unverständlicherweise immer wieder von manchen Autoren erhofft wird. Experimentell wurde dieses Faktum besonders eindrucksvoll bei der Prüfung eines industriellen Tuberkulostatikum-Mehrfach-Präparates mit nicht weniger als 5 verschiedenen tuberkulostatischen Komponenten bestätigt (47). Auch hier gelang es nachzuweisen, daß sich 3 von 20 geprüften Tb.-Bakterien-Populationen gegenüber dieser "Breitseite" eines Bakteriostatika-Eingriffes durch die Bildung resistenter Keimindividuen behaupteten. Die kürzere Zeitspanne der Sensibilitätsabnahme der Tuberkelbakterien gegen INH gegenüber z. B. dem Streptomycin erklärt sich möglicherweise durch ein etwa fünfhundertmal häufigeres Vorhandensein bereits primär INH-resistenter als Streptomycin-resistenter Keime in der Tuberkelbakterienpopulation (61). Jedoch wechselt der Anteil der primär INH-resistenten Keime bei den einzelnen Stämmen und kann auch ganz fehlen (27).

Diese Tatsache der schnellen Resistenzbildung gab Veranlassung, tierexperimentell die Wirkung eines weniger toxischen INH-Präparates, des Inhasans⁺, des antibakteriellen Wirkstoffes Nisin⁺⁺, eine Kombination beider sowie eine Kombination beider in Verbindung mit Kobalt auf eine Tuberkulose-Infektion zu untersuchen, um zu prüfen, ob sie in der Lage sind, eine Generalisation der Tuberkulose zu verhindern. In dem Folgenden soll zunächst ein Literaturüberblick über das Inhasan, Nisin und Kobalt gegeben werden, soweit sie die Problemstellung der Tb-Behandlung betreffen.

⁺ Hersteller: Chemische Fabrik Joh. A. Benckiser, Ludwigshafen

⁺⁺ Hersteller: Aplin and Barret Ltd., Yeovil, Somerset (England)

B. DIE TUBERKULOZIDE UND TUBERKULOSTATISCHE WIRKUNG DES INHASANS

Eine große Zahl von Derivaten des INH ist in den letzten Jahren durch Kondensation mit Carbonylverbindungen hergestellt worden. Die Wirksamkeit gegenüber den Tb.-Bakterien konnte jedoch hierdurch nicht gesteigert werden, dagegen trat aber eine Verminderung der Toxizität im Verhältnis zum INH ein. Insbesondere sind es die Kohlehydratverbindungen des INH, die sich durch ihre gute Verträglichkeit auszeichnen. Die ersten waren Fox und Gibas, die das INH mit Glukose zur Reaktion brachten (24). Bernstein und Mitarbeiter stellten weitere INH-Derivate mit anderen Aldosen und mit Fruktose her (10). Die gute Wirksamkeit derartiger Verbindungen gegen Tb.-Bakterien wurde von Offe, Siefken und Domagk frühzeitig erprobt (63). Mit dem Glukoronosid des INH als Tuberkulostatikum konnte Brouet (12) gute Erfolge in der Behandlung der Tuberkulose erzielen. Gleichermäßen günstig wird dieses Derivat von Südhof, Kröger und Kellner (72) beurteilt. Die gute Verträglichkeit des Sulfanil-Derivates des D-Glukosamins veranlaßte Kimmig und Mitarbeiter (46), Kondensationsprodukte von Aminoszuckern mit INH herzustellen und auf ihre Wirkung gegenüber den Tb.-Bakterien in vitro und in vivo zu untersuchen. Kimmig verwandte für die Umsetzung mit INH das N-Acetyl-D-Glukosamin. Diese Reaktion verläuft in Methanol sehr langsam, dagegen nach Zugabe von Essigsäure unter Bildung von N-Acetyl-D-Glukosaminyl-INH sehr schnell, wobei als Verbindung das Dihydrat anfällt, das durch Lösen in kaltem Wasser und langsamen Fällen mit Aceton zur Analyse gereinigt werden kann. Kimmig (46) hat mit der N-Acetyl-Glukosaminyl-INH-Verbindung, deren Handelsbezeichnung Inhasan ist, tuberkulös infizierte Meerschweinchen behandelt. Nach vorausgegangenen Toxizitätsuntersuchungen konnte die Dosierung auf 400 mg/kg die i. p. durchgeführt werden. Die maximale Gabe des reinen INH-Präparates erlaubt in Dauerversuchen lediglich tägliche Gaben von 10 mg/kg. Die weiteren Untersuchungen von Kimmig haben ergeben, daß nach einer 3-4 monatigen Behandlung mit INH bei einer Dosierung von 10 mg/kg in den regionalen Lymphknoten noch regelmäßig Tuberkelbakterien nachgewiesen werden konnten. Im Gegensatz dazu gelang es mit dem Derivat des INH, dem Inhasan, bei der angegebenen Dosierung von 400 mg/kg pro Tag die experimentelle Meerschweinchen-Tuberkulose in 4 Monaten auszuheilen. Rezidive sollen innerhalb einer 3- bis 8-monatigen Nachbeobachtung nicht aufgetreten sein.

Die Nebenwirkungen des INH werden bei Erwachsenen nach den bisherigen Erfahrungen als gering angesehen. Neben allergischen Erscheinungen sind vereinzelt Parästhesien, Leberschäden und Störungen der Hämatopoese beschrieben worden. Bei Kindern hat jedoch nach Kuske (48) die INH-Behandlung häufiger zu einem Anstieg der Serumbilirubin- und der Xanthoproteinwerte, zu pathologischen Galaktose-, Farbstoffbelastungs- und Thymolreaktionen sowie zu klinisch gesicherten Leberschäden geführt. Nach Brügger (14) wirkt das Medikament, wie es auch Hartmann (37) annimmt und wie es die tierexperimentellen Untersuchungen beweisen, direkt auf die Leber ein. Über weitere Leberschäden bei Kindern unter INH-Behandlung berichten Brockhaus (13) und Spiess (72). Dieckhoff (18) führt jedoch diese pathologischen Werte der Leberfunktionsproben auf die toxische Einwirkung der tuberkulösen Erkrankung selbst zurück. Renovanz (67) wandte daher das weniger toxische Inhasan besonders bei Kindern und Jugendlichen an, bei denen eine Hepatitis-Infektion vorausgegangen war. Nach Canal und Garrattini (15) greift INH in enzymatische Systeme wie z. B. in die Leber-Cystein-Decarboxylase ein und blockiert sie. Ferner soll der respiratorische Quotient der Leber gesenkt werden und die Acetessigsäureproduktion sich steigern. Das Inhasan ist dagegen nach Angaben von Quastel und Mitarbeitern (66) in der Lage, organische Katalasen, besonders der Leber, zu stimulieren, die durch INH inhibiert werden. Versuche von Renovanz (67) an mit Tuberkelbakterien infizierten Meerschweinchen haben bei einer täglichen Applikation von 100 mg/kg Inhasan in 40 Tagen dazu geführt, daß bei den behandelten Tieren die Generalisation der Tuberkulose gering war und nur vereinzelt im histologischen Bild Verkäsungen nachgewiesen werden konnten, während bei den unbehandelten Kontrolltieren das typische Bild der generalisierenden verkäsenden Tuberkulose auftrat. Vergleichende Resistenzbestimmungen zwischen dem INH und dem Inhasan lieferten in etwa gleiche Resultate. Auch die Blutspiegeluntersuchungen des Inhasans lassen eine dem INH analoge Übereinstimmung erkennen. Die klinischen Erfahrungen führten zu dem Ergebnis, daß Inhasan in all den Fällen gut vertragen wurde, wo das INH wegen verschiedenster Erscheinungen abgesetzt werden mußte. Bei den Patienten, bei denen eine Hepatitis infectiosa vorlag, wurde 3-4 Wochen nach Normalisierung der Leberbefunde zur Behandlung ihrer bestehenden Tuberkulose Inhasan appliziert und komplikationslos vertragen. Diese günstigen Resultate ließen es uns angezeigt erscheinen, die Wirkung des reinen Inhasans nochmals zu überprüfen, um Vergleichswerte gegenüber einem Inhasan-Kombinationspräparat zu besitzen. Zur Herstellung dieses Kombinationspräparates wurde das Nisin verwandt. Zu seiner Beurteilung ist es jedoch notwendig, ebenfalls einen Überblick hierüber zu geben.

C. DER ANTIBAKTERIELLE WIRKSTOFF NISIN

Die bakteriellen Hemmeffekte gewisser *Streptococcus lactis*-Arten wurden zum erstenmal von Rogers (69) beobachtet, als er für die Herstellung von Joghurt *Lactobacillus bulgaricus* verwandte. Mattick und Hirsch (57, 58) haben diese Hemmsubstanz, die sie "Nisin" nannten, näher untersucht und isoliert. Die weiteren Versuche hierüber wurden von Hirsch (39, 40, 41, 43, 42, 44) Berridge (, 6, 7, 8, 9) Carlson und Bauer (3, 16) sowie Lilley (52) durchgeführt, während Gowans, Smith und Florey (35) erstmals die therapeutische Anwendungsmöglichkeit des Nisins erprobt haben.

Beim Nisin handelt es sich um eine metabolische Substanz gewisser N-Gruppen-*Streptococcus-lactis*-Arten, deren natürlicher Nährboden Milch und ihre Gärungsprodukte wie Käse und joghurtähnliche Getränke sind. Chemisch gesehen handelt es sich um ein Polypeptid oder kleineres Protein mit einem Molekulargewicht von ca. 10 000 und besteht aus 5 Polypeptidkomponenten mit leicht voneinander abweichenden physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften (5, 6, 9). In vitro und in vivo entwickelt es gegenüber verschiedenen grampositiven Bakterien und Bazillen eine bakteriostatische bzw. bakterizide Wirkung. Um diese Mikroorganismen zu inhibieren, muß die Nisinkonzentration je nach der Empfindlichkeit des Keimes 0,25 bis 500 E./ml betragen. Die Löslichkeit des Nisins ist vom pH und der Art des Substrates abhängig. Bei einem pH von 7 lösen sich in Wasser 75 $\mu\text{g/ml}$. Durch eine Herabsetzung des pH auf 5,6 erhöht sich diese Zahl auf 1 000 $\mu\text{g/ml}$ und bei pH 4,2 auf 12 000 $\mu\text{g/ml}$. Das Vorhandensein von Eiweiß im Substrat verbessert die Löslichkeit des Nisins aufgrund von Resorptionseffekten. Das optimale Lösungsmittel für kristallines Nisin und für Nisin-Präparate mit einem hohen Aktivitätsgehalt stellt einen 0,02 m-HCl dar. Die weiteren Eigenschaften des Nisins sind, daß es in trockenem Zustand unbegrenzt bei Zimmertemperatur aufbewahrt werden kann. In Lösungen hängt dagegen seine Stabilität vom pH, der Temperatur und von der Art des Lösungsmittels ab. Eine relativ schnelle Inaktivierung erfolgt in einem alkalischen Milieu, sofern das Nisin nicht durch Begleitsubstanzen wie Eiweiß stabilisiert wird. Ein wäßriges Nisin-Substrat mit einem Gehalt von 50 $\mu\text{g/ml}$ und einem Zusatz von 3 % Eiweiß benötigt zu seiner Inaktivierung bei pH 8 eine Temperatur von 100 °C für 2 Stunden. Bei pH 9 erfolgt die Inaktivierung des gleichen Substrates bereits nach einer Stunde und bei pH 10 nach 30 Minuten. Eine Erhitzung auf 100 °C ruft in einem pH-Bereich von 2 faktisch keine Abnahme der antibakteriellen Wirksamkeit hervor. Bei pH 6 beträgt sie dagegen in einer Stunde 25 % (52).

Für die therapeutische Verwendung des Nisins ist es notwendig, seine Löslichkeit im Blut zu kennen. Nach Angaben von Berridge (9) lösen sich in 1 ml Blut 5 000 E., wobei definitionsgemäß eine Einheit diejenige Nisinmenge ist, die das Wachstum von *Streptococcus agalactiae* in 1 ml Nährbouillon hemmt (5).

Die LD₅₀ des Nisins wird für die i.p. Applikation beim Kaninchen mit 200 mg/kg angegeben (58). Auf die Phagozytose der Leukozyten soll das Nisin keinen Einfluß ausüben (58) und desgleichen soll es selbst in höheren Konzentrationen Erythrocyten nicht hämolisieren (42). Organuntersuchungen nach Nisin-Applikation ließen erkennen, daß die höchste Anreicherung in der Lunge stattzufinden scheint (58). Für in vivo-Versuche ist weiterhin die Dauer eines therapeutisch wirksamen Blutspiegels bedeutungsvoll. Eine einmalige intraperitoneale Injektion von 400 000 Einheiten Nisin ergab einen wirksamen Blutspiegel von 5 Stunden (3, 16).

Neben zahlreichen Testungen gegenüber Bakterien wurde auch die Wirksamkeit des Nisins gegenüber Mycobakterien geprüft (42). Die Hemmkonzentration lag bei Verwendung eines synthetischen Nährbodens nach Long in der Größenordnung von 100 bis 300 E./ml. Dieses Ergebnis verbesserte sich, wenn anstelle des Nährmediums nach Long das Medium nach Dubos und Davis, das Tween 80 enthält, verwandt wurde. Hier reichten bereits 1 bis 3 E./ml aus, um die Mycobakterien zu unterdrücken. Dies entspricht etwa der Wirksamkeit des Streptomycins. Kombinationen von Nisin mit anderen Antibiotica wie z. B. Streptomycin oder Licheniformin ergaben keinen Synergismus oder keine additive Wirkung. Dagegen führte die Kombination Nisin, Streptomycin und Licheniformin zu einer stärkeren Wirksamkeit, die aber nach Angaben der Autoren gleichfalls nicht als einfache Addition aufzufassen ist (42). Ein ähnliches Verhalten wird von der Kombination Nisin, Licheniformin und Sulfathiazol berichtet. Gegenüber anderen antibakteriellen Wirkstoffen resistente Mycobakterien sprachen gut auf Nisin an.

Tierexperimentelle Untersuchungen zeigten, daß eine s.c.-Applikation des Nisins die Ausbreitung der Tuberkulose verhindern und i.v.-Gaben die Entwicklung beinahe vollständig unterdrücken können (42). Bavin und Beach (4) war es nicht möglich, diese Ergebnisse zu bestätigen. Nach ihren Angaben ist die antituberkulöse Wirkung des Nisins geringer als die des Streptomycins. Weiterhin sind sie der Ansicht, daß Mattick und Hirsch in ihren Versuchen einen Tb.-Bakterien-Stamm von Typus bovinus verwandt haben müssen, der eine höhere Nisinempfindlichkeit besitzt. Als weitere Schwierigkeiten für die Tb.-Behandlung mit Nisin sehen Bavin und Beach (4) die

schnelle Aktivitätsabnahme des Nisins im Blut, die eine längere Aufrechterhaltung therapeutischer Blutspiegelwerte sehr schwer ermöglicht.

Auf Grund dieser widersprechenden Angaben war es für uns von Interesse, die Wirkung des Nisins allein, in Kombination mit Inhasan und zusätzlich noch mit Co Cl_2 zu untersuchen, weil über die Wirksamkeit einer Kombinations-therapie ohne empirische Ermittlung keine Aussagen gemacht werden können, ob die Einzeltherapeutica in Kombination sich synergistisch oder antagonistisch verhalten.

D. DIE TUBERKULOZIDE UND TUBERKULOSTATISCHE WIRKUNG DES KOBALT

Die ersten therapeutischen Versuche an tuberkulösen Tieren mit Kobalt (Co) wurden von Rondoni (70) durchgeführt. Er beobachtete, daß eine Behandlung sowohl mit Co-Sulfat und -Chlorid als auch mit organischen Co-Komplexverbindungen eine tierexperimentelle Tuberkulose leichter verlaufen läßt. Weiterhin konnte er eine Sklerosierungstendenz im Bereich der Tb-Herde erkennen. Die i. v. -Applikation eines in 50%iger Glukose-Lösung suspendierten Kobaltpulvers (Partikelgröße von $10-20 \mu$) erwies sich bei einer Dosierung von 7 mg/kg nicht als toxisch (54). Weitere Untersuchungen ergaben, daß unter der Co-Einwirkung das Körpergewicht der behandelten Tiere anstieg, und daß es zu einer Fibroplastensammlung in unmittelbarer Nähe der tuberkulösen Herde kam. Günstige therapeutische Erfolge mit einem Co-haltigen Präparat konnten auch an Tb. - kranken Patienten erzielt werden (34). Unter der Co-Applikation trat eine auffallende Besserung des Allgemeinzustandes ein und die Tb. - Bakterien verschwanden aus dem Auswurf. Auch im röntgenologischen Bild war ein Rückgang der pathologischen Veränderung zu beobachten. Dieses günstige Ergebnis wird jedoch nicht von allen Autoren bestätigt (79). Stets trat aber bei schweren Infektanämien im Verlaufe der Tuberkulose unter der Co-Therapie eine wesentliche Besserung der Anämie, des Appetits, des Blutdrucks und eine deutliche Gewichtszunahme ein (64). Für die Durchführung von Tierversuchen ist die Kenntnis gewisser pharmakologischer Eigenschaften des Co Voraussetzung. Hierzu gehört in erster Linie die Festlegung der Toxizitätsgrenze. Eine Menge von 22,5 mg Co wurde von Kaninchen monatelang ohne Schädigung vertragen (49). Des weiteren soll Co eiweißsparend wirken. Co-Azetat führt

dagegen bei einer Dauertherapie zu einer Leberzirrhose (75). Nach i. v. - Gaben von Co werden innerhalb von 48 Stunden 65 bis 70 % im Urin ausgeschieden, nach einer s. c. - Applikation sind es 20 bis 25 % und nach einer i. m. - Verabreichung 30-40 % (78). Von weiterem Interesse ist die Speicherung des Co im Organismus. Nach den Angaben der Literatur werden in der Milz etwa 67 mg%, im Pankreas und in der Leber 35 mg%, in der Niere 25 mg%, im Gehirn 4 mg% und in der Muskulatur 2,5 mg% gespeichert (11). Im Blut ließ sich kein Co nachweisen (56), jedoch beträgt nach neueren Untersuchungen sein Anteil im Serum 0,5 bis 1,0 mg% (78). Über den Vorgang dieser Co-Speicherung herrscht noch keine einheitliche Vorstellung.

Die klinische Bedeutung des Co besteht vor allem in der Beeinflussung des roten Blutbildes (65, 77). Es soll hier zu einer Erhöhung des Hämoglobins, der Erythrozyten und der Retikulozyten führen, während die eosino- und basophilen Zellen nicht beeinflusst werden. Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang noch das Auftreten der sog. Kurloff-Körperchen, die wegen ihrer Chromatinanordnung den Lymphozyten zugerechnet werden (53, 76). Therapeutische Versuche mit Co haben weiterhin erkennen lassen, daß es innerhalb der ersten Tage zu einer Auspressung des Depotblutes und erst nach etwa 7 Tagen zu einer Erythropoese und echten Polyglobulie kommt, die mit einer längeren Blutungs- und Gerinnungszeit einher geht (78).

In neuerer Zeit hat Gillissen den Einfluß des Co auf die tierexperimentelle Tuberkulose untersucht. Er konnte hierbei feststellen, daß die Antikörperbildung gegenüber den Tb.-Bakterien nach Immunisierung mit dem Methylantigen aus Tb.-Bakterien durch Co Cl₂ nicht erhöht wird (29). Vitroteste zeigten eine gute bakteriostatische und bakterizide Wirkung gegenüber den Tb.-Bakterien, wenn dem Nährmedium Co Cl₂ zugesetzt wurde. Dieser Effekt ist jedoch stark von der Konzentration der im Nährmedium enthaltenen komplexbildenden Stoffe, mit denen das Co Cl₂ reagieren kann, abhängig. Gute therapeutische Resultate waren auch an Tb.-infizierten Kaninchen mit Co - Cl₂ zu erzielen. Besonders günstig erwies sich eine Kombination von Co Cl₂ mit dem Methylantigen aus Tb.-Bakterien (30). Weiterhin lieferte Gillissen (31) die Bestätigung einer bereits früher gemachten Feststellung (55). Hiernach wird das Co besonders in den Organen angereichert, an deren Eiweiß es vor der Injektion gebunden war. So gelang es, mit einem Komplex an Lungenextrakt derselben Tierart gebundenem Co ohne Zusatz spezifisch antituberkulöser Mittel eine ausgeprägte Entwicklungshemmung der Tuberkulose zu erzielen, während ohne Bindung an den Lungenextrakt sich der Einfluß des Co hauptsächlich auf die Tuberkulose der Leber und der Milz erstreckte. Die Anreicherung des

Co nach vorausgegangener Bindung an Lungenextrakt konnte tierexperimentell mit dem markierten Isotop ^{60}Co bewiesen werden (32, 33). Eine Kombinationstherapie mit Kobalt und Streptomycin schien ebenfalls besser zu sein, als wenn das Streptomycin allein verwandt wurde (33). Diese insgesamt günstigen Resultate veranlaßten uns, auch bei unserer Fragestellung das Kobalt in die Kombinationstherapie der Tuberkulose mit Nisin und Inhasan einzubeziehen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollen im folgenden näher behandelt werden.

Das Problem der Resistenzsteigerung der Tb.-Bakterien blieb in den eigenen Versuchen unberücksichtigt. Dieser Fragestellung soll später gesondert nachgegangen werden.

E. METHODIK

Für die Durchführung der tierexperimentellen Untersuchungen wurden 50 männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht von 300 ± 25 g gewählt. Die Infektion der Tiere erfolgte s. c. mit je 0,2 mg Tb.-Bakterien (Feuchtgewicht) in 1 ml phys. NaCl. Die Tb.-Bakterien stammten von einer 4 Wochen alten Kultur des Tb.-Stammes H37 Rv auf Gottsackernährboden. Vor der Verdünnung des Ausgangsmaterials zur Herstellung der Injektionssuspension wurden die Tb.-Bakterien-Konglomerate durch 30 Min. langes Schütteln in einem entsprechenden Gefäß auf einem Schüttelbrett homogenisiert.

Die 50 Meerschweinchen wurden in 5 Gruppen zu je 10 Tieren aufgeteilt. Die Versuchsgruppe I diente zur Kontrolle. Diese Tiere erhielten täglich anstelle der zu prüfenden Versuchssubstanzen 1 ml steriles Aqua dest. i. p. injiziert. Die Versuchsgruppe II wurde mit Inhasan behandelt. Die i. p. Injektionsmenge betrug für jedes Tier pro Tag gleichfalls 1 ml mit einer Inhasankonzentration von 50 mg. Für die Versuchsgruppe III wurde zur Behandlung der Tb.-Infektion die Kombination Nisin und Inhasan gewählt. Die tägliche Applikationsmenge von 1 ml enthielt 200 000 E Nisin und 50 mg Inhasan. In der Versuchsgruppe IV wurde diese Kombination durch Zugabe einer Ni-freien $\text{CoCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ -Lösung (Merck) erweitert, so daß sich die tägliche i. p. -Injektionsmenge von 1 ml aus 2 mg CoCl_2 , 50 mg Inhasan und 200 000 E Nisin zusammensetzte. Die Versuchsgruppe V bekam täglich i. p. 1 ml einer Nisinlösung mit einem Aktivitätsgehalt von 200 000 E. Auf eine alleinige Applikation von CoCl_2 bei einer weiteren Tb.-infizierten Tiergruppe wurde verzichtet,

VERSUCHSGRUPPE I

Makroskopischer Sektionsbefund der unbehandelten Meerschweinchen

Tier	Herz	Lunge	Nieren	Leber	Milz	Lymphknoten an der Injektionsstelle und parailiacal
1	o. B.	kleine miliare Herde	o. B.	kleine miliare Herde	ausgedehnte konfluierende Herde	bohngengroß, Verkäsung
2	o. B.	kleine vereinzelte Herde	o. B.	kleine und größere miliare Herde	ausgedehnte konfluierende Herde	bohngengroß, Verkäsung
3	o. B.	o. B.	o. B.	größere miliare Herde	ausgedehnte konfluierende Herde	erbsengroß, Verkäsung
4	o. B.	vereinzelte Herde	o. B.	miliare, konfluierende Herde	ausgedehnte konfluierende Herde	bohngengroß, Verkäsung
5	o. B.	o. B.	o. B.	einzelne miliare Herde	ausgedehnte konfluierende Herde	linsengroß, Verkäsung
6	o. B.	kleine miliare Herde	o. B.	größere, einzelne Herde	ausgedehnte konfluierende Herde	bohngengroß, Verkäsung
7	o. B.	vereinzelte, miliare Herde	o. B.	größere, konfluierende Herde	ausgedehnte konfluierende Herde	erbsengroß, Verkäsung
8	o. B.	o. B.	o. B.	zahlreiche, miliare Herde	ausgedehnte konfluierende Herde	bohngengroß, Verkäsung
9	o. B.	vereinzelte, miliare Herde	o. B.	zahlreiche, größere und kleinere Herde	ausgedehnte konfluierende Herde	erbsengroß, Verkäsung
10	o. B.	vereinzelte, miliare Herde	o. B.	o. B.	ausgedehnte konfluierende Herde	bohngengroß, Verkäsung

VERSUCHSGRUPPE II

Makroskopischer Sektionsbefund der mit Inhasan behandelten Meerschweinchen

Tier	Herz	Lunge	Nieren	Leber	Milz	Lymphknoten an der Injektionsstelle (a) und parailiacale (b)
11	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, Verkäsung b. o. B.
12	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt kleine Herde	a. erbsengroß, Verkäsung b. linsengroß, Verkäsung
13	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. erbsengroß, Verkäsung b. linsengroß, Verkäsung
14	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt kleine Herde	vereinzelt kleine Herde	a. erbsengroß, Verkäsung b. erbsengroß, Verkäsung
15	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. erbsengroß, Verkäsung b. o. B.
16	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt kleine Herde	a. erbsengroß, Verkäsung b. linsengroß, Verkäsung
17	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt kleine Herde	a. erbsengroß, Verkäsung b. erbsengroß, Verkäsung
18	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. erbsengroß, Verkäsung b. o. B.
19	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. erbsengroß, Verkäsung b. linsengroß, ohne Verkäsung
20	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	

weil über den Ausgang eines derartigen Versuchsansatzes exakte Angaben vorliegen (29, 30, 31). Die Behandlung der Tiergruppen II-V und die Aqua dest. Applikation der Knotrollgruppe I begann 5 Tage nach der Tb. -Infektion und erstreckte sich über 42 Tage. Um einen weiteren Anhaltspunkt über den Infektionsverlauf erhalten zu können, wurde wöchentlich von jedem Tier eine Gewichtskontrolle und von je 5 Tieren jeder Gruppe der Hämoglobingehalt nach Sahli und die Erythrozytenzahl bestimmt.

Sämtliche Tiere jeder Versuchsgruppe wurden am 42. Behandlungstag bzw. am 47. Tag nach der Tb. -Infektion getötet und makroskopisch sowie histologisch untersucht. Bei den Tieren, bei denen sich ein makroskopischer Befund erheben ließ, wurden für die histologische Verarbeitung nur Gewebeproben verwandt, die auf tuberkulöse Veränderungen suspekt oder deutlich tuberkulös verändert waren. Von allen anderen Tieren, bei denen sich keine makroskopischen Organveränderungen erheben ließen, wurde für die histologische Bewertung an einer beliebigen Organstelle eine Probe entnommen. Von sämtlichen Gewebeproben wurden nach ihrer Fixierung Gefrierschnitte hergestellt und mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt.

Der makroskopische Sektionsbefund eines jeden Tieres ist nach Versuchsgruppen geordnet in den Tabellen I - V wiedergegeben. Im Anschluß einer jeden Tabelle sind die histologischen Organveränderungen jeder Tiergruppe zusammengefaßt beschrieben und die wesentlichsten charakteristischen Veränderungen von einigen Präparaten fotografisch wiedergegeben worden.

F. VERSUCHSERGEBNISSE

Histologische Organveränderung der Tiere der Gruppe I

Lunge:

Das histologische Bild zeigt bei allen Tieren eine epitheloidzellige Tuberkulose, deren Befall bei den Tieren 1, 2, 4, 5, 8, 9, 10 sehr stark ausgeprägt ist. Bei den Tieren 3 und 6 sind diese Veränderungen geringer. Bei der Übersicht findet man Lungenabschnitte mit geblähten Alveolen und zartem Alveolargerüst, denen zelldichte und luftleere Bezirke gegenüberstehen. Die Septen sind hier breit und zellreich. In diesen Bezirken ist das Lungengewebe durch epitheloidzellige, rundliche oder ovale Herde mit teilweise einer zentralen Nekrose und einem Lymphozytenwall zerstört. Weiterhin lassen sich mehrker-

nige Langerhans'sche Riesenzellen erkennen. Bei den Tieren, 1, 2, 4, 6, 8 und 9 sind in einem Gesichtsfeld bei der Lupenvergrößerung bis zu 10 solcher Herde sichtbar, während der Befall bei den Tieren 3 und 6 geringer ist. Tier 10 weist neben einzelnen Tuberkulose-Knötchen eine eitrige Pneumonie auf. Bild 1 veranschaulicht diese tuberkulösen Veränderungen.

Leber:

Man findet diffus über die Leber verstreut, vorwiegend auf die Glisson'schen Dreiecke lokalisiert, oft bis zu 3 typische miliare Tb.-Köntchen. Während der Befund bei den Tieren 1, 2, 3, 4, 5, 6 sehr massiv ist, ist er bei den Tieren 7, 8, 9 weniger stark ausgeprägt. Bei Tier 10 besteht kein Anhalt für eine Tuberkulose. Bild 2 gibt den tuberkulösen Befall des Lebergewebes wieder.

Milz:

Bei 9 Tieren dieser Gruppe finden sich ausgedehnte, teilweise konfluierende, epitheloidzellige tuberkulöse Knötchen mit zahlreichen Riesenzellen diffus über das Milzgewebe verstreut. Dieser Befund ist bei Tier 9 geringer. Die pathologisch - histologischen Veränderungen sind in Bild 3 wiedergegeben.

Herz:

In den histologischen Herzschnitten ist allein bei Tier 10 ein epitheloidzelliges Knötchen nachweisbar.

Nieren:

Mit Ausnahme von Tier 8, bei dem ein epitheloidzelliges Knötchen vorhanden ist, lassen sich in den Nierenschnitten keine tuberkulösen Veränderungen erkennen.

Histologische Organveränderungen der Tiere der Gruppe II

Lunge:

Es finden sich bei der Durchsicht zahlreiche tuberkulöse Herde in jedem Gesichtsfeld. Großflächige, konfluierende Bezirke bestehen bei den Tieren 12, 15, 19 und 20. Bei den übrigen Tieren sind vereinzelt kleine, epitheloidzellige Herde, die nur selten eine zentrale Nekrose zeigen, erkennbar.

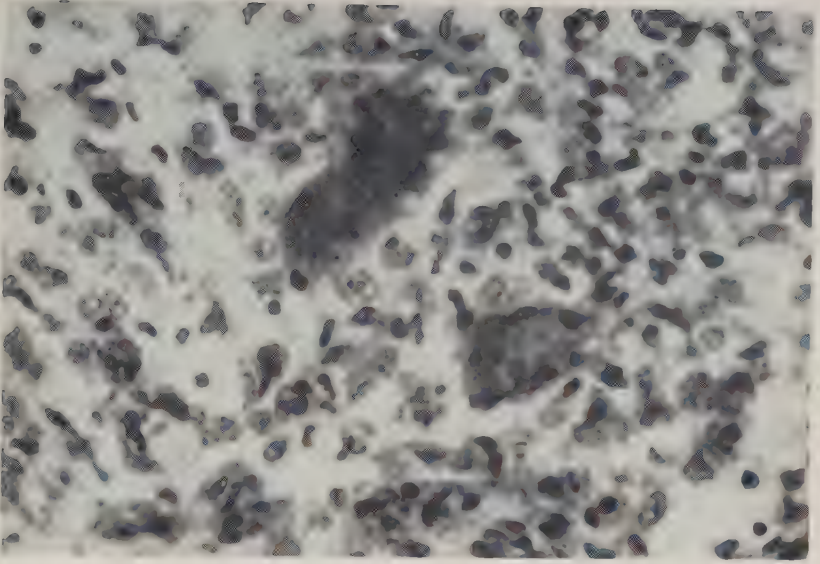


Bild 1: Epitheloidzellige Tb. -Knötchen mit Riesenzellen (Tier 6)
(Abbildungsmaßstab 500 : 1)

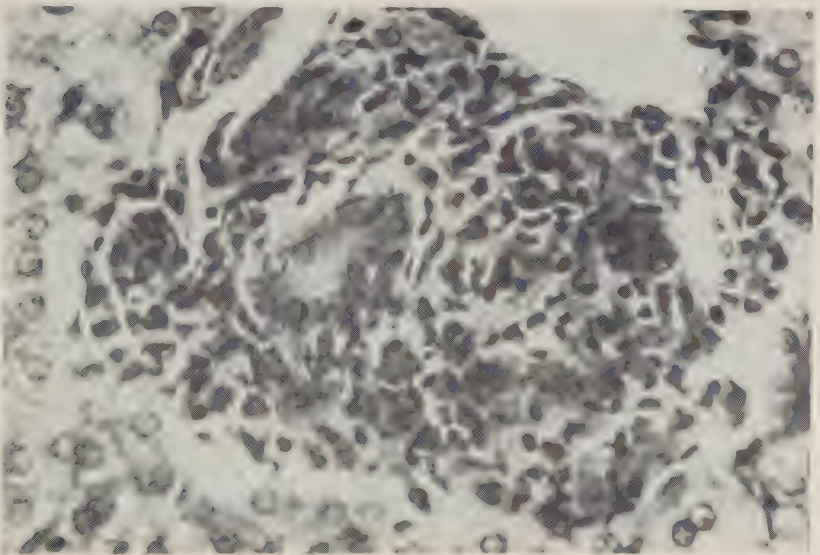


Bild 2: Epitheloidzellige tuberkulose Herde mit Riesenzellen im
Glisson'schen Dreieck (Tier 1)
(Abbildungsmaßstab 500 : 1)

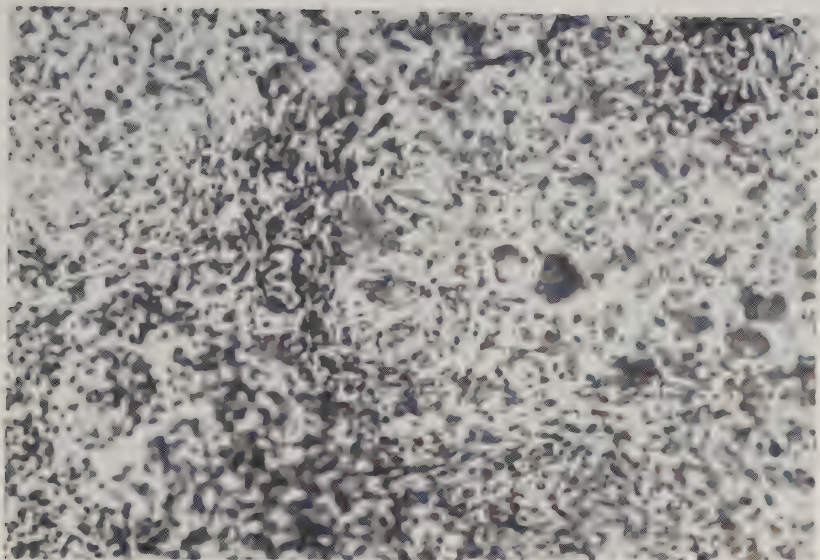


Bild 3: Ausgedehnte konfluierende Tuberkulose der Milz mit zahlreichen Riesenzellen (Tier 2)
(Abbildungsmaßstab 200 : 1)

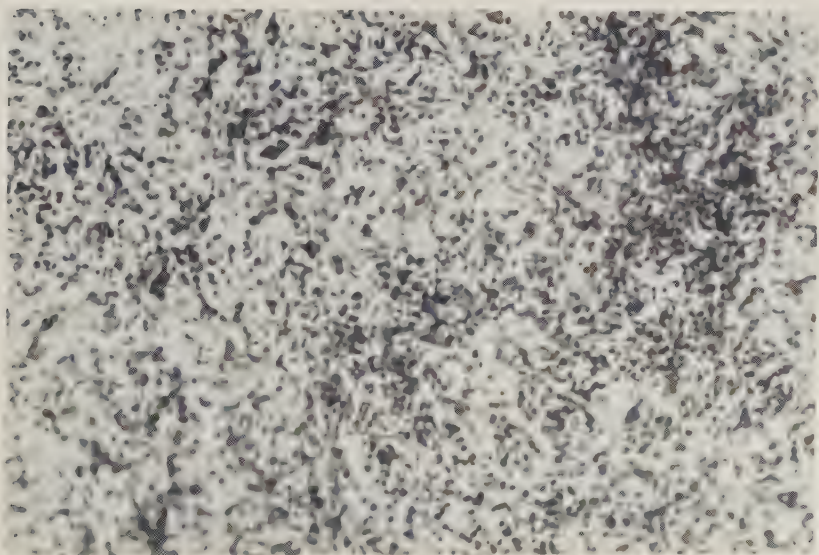


Bild 4: Unspezifische Entzündung vorwiegend der Milzfollikel mit Retikulum-Schwellung (Tier 20)
(Abbildungsmaßstab 200 : 1)

VERSUCHSGRUPPE III

Makroskopischer Sektionsbefund der in Kombination mit Inhasan und Nisin behandelten Meerschweinchen

Tier	Herz	Lunge	Nieren	Leber	Milz	Lymphknoten an der Injektionsstelle (a) und parailiacal (b)
21	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, Verkäsung b. linsengroß, Verkäsung
22	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. nicht nachweisbar b. linsengroß, ohne Verkäsung
23	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. o. B. b. o. B.
24	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. o. B. b. linsengroß, ohne Verkäsung
25	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. o. B. b. linsengroß, ohne Verkäsung
26	Tier am 13. Tag nach der Infektion eingegangen					
27	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, ohne Verkäsung b. Lymphdrüse etwas vergrößert
28	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, Verkäsung b. linsengroß, Verkäsung
29	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, Verkäsung b. linsengroß, ohne Verkäsung
30	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, Verkäsung b. linsengroß, ohne Verkäsung

1

VERSUCHSGRUPPE IV

Makroskopischer Sektionsbefund der in Kombination mit Inhasan, Nisin und Kobalt behandelten
Meerschweinchen

Tier	Herz	Lunge	Nieren	Leber	Milz	Lymphknoten an der Injektionsstelle (a) und parailiacal (b)
Tier am 15. Tag nach der Infektion eingegangen						
31	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, beginnende Verkäsung b. o. B.
32	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, beginnende Verkäsung b. linsengroß
33	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, Verkäsung b. o. B.
34	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, Verkäsung b. o. B.
35	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. erbsengroß, Verkäsung b. o. B.
36	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. erbsengroß, Verkäsung b. etwas vergrößert
37	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, Verkäsung b. etwas vergrößert
Tier am 18. Tag nach der Infektion eingegangen						
38	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. erbsengroß, beginnende Verkäsung b. o. B.
39	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. linsengroß, Verkäsung b. o. B.
Tier am 20. Tag nach der Infektion eingegangen						
40	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	a. erbsengroß, Verkäsung b. linsengroß

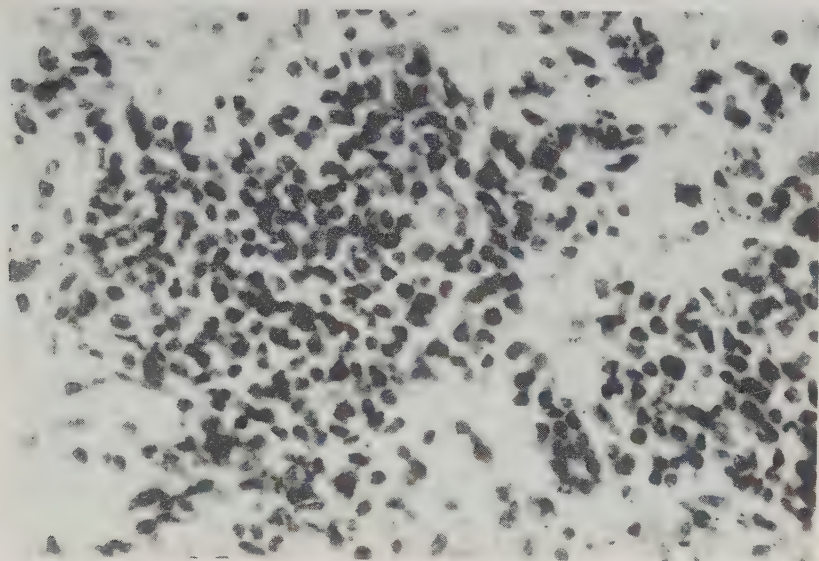


Bild 5: Rundzelleninfiltrat der Lunge (Tier 27)
(Abbildungsmaßstab 500 : 1)

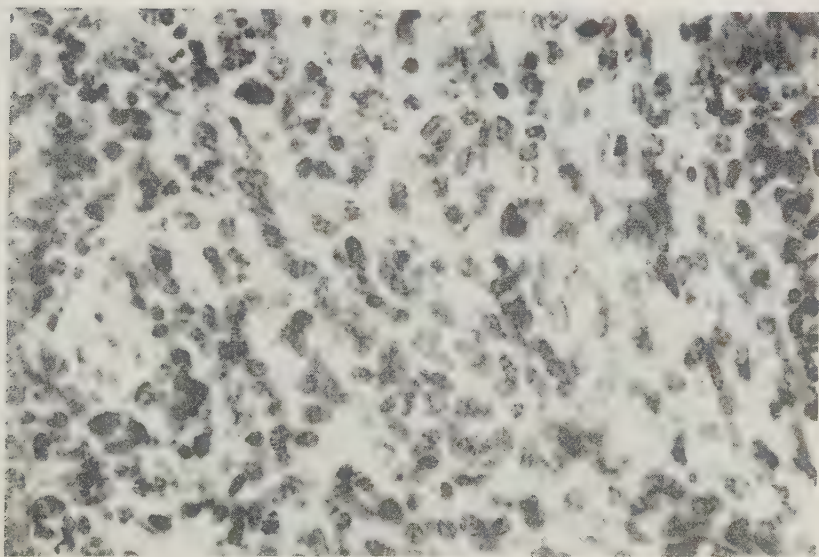


Bild 6: Epitheloidzellige Reaktion der Milz (Tier 29)
(Abbildungsmaßstab 500 : 1)

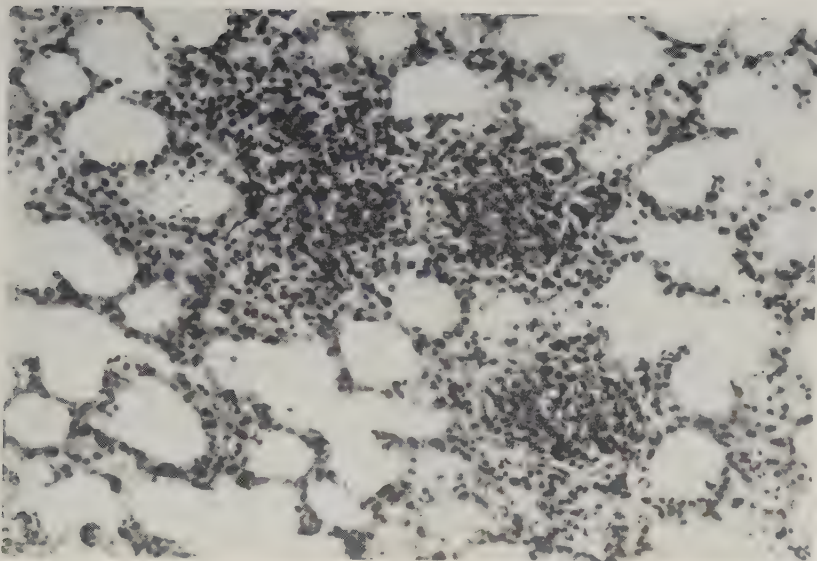


Bild 7: Rundzellenherde mit wenigen Epitheloidzellen (Tier 37)
(Abbildungsmaßstab 200 :1)

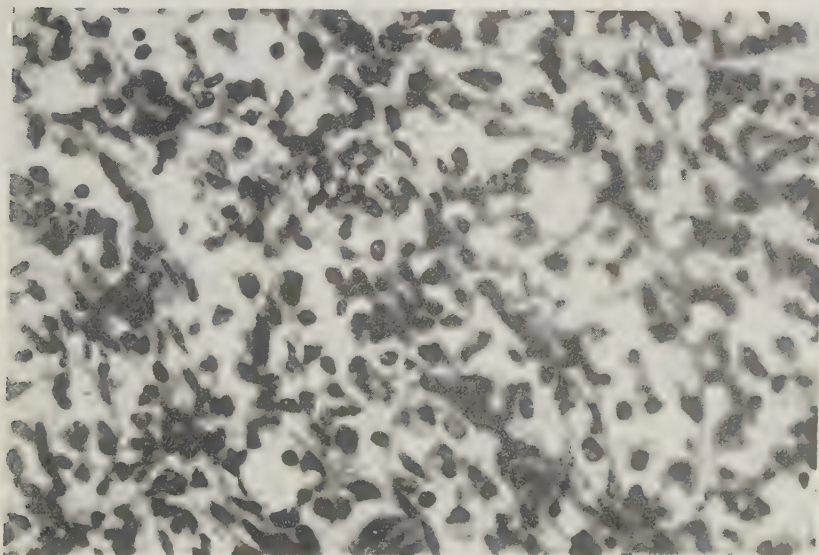
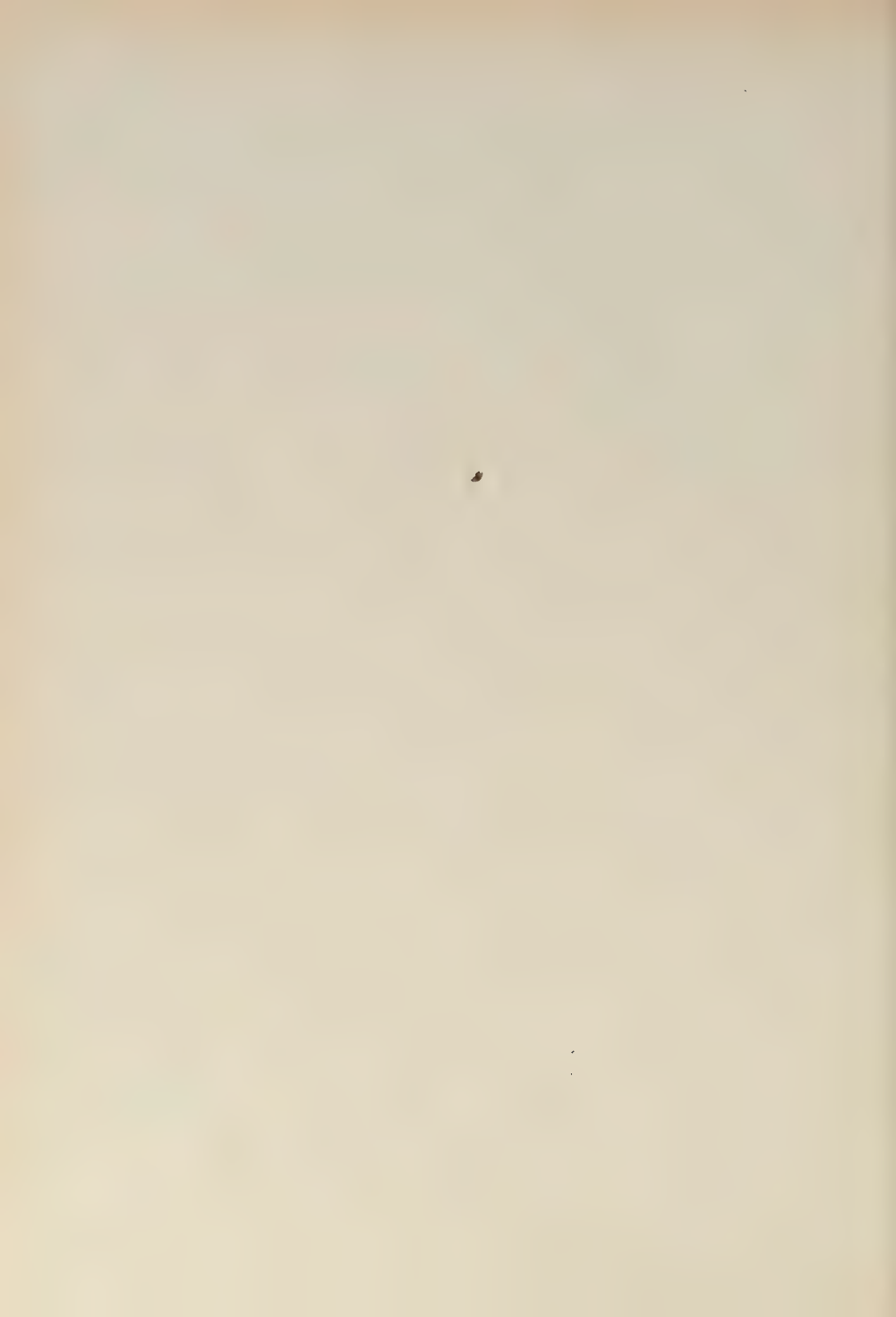


Bild 8: Rundzelleninfiltrate in der Milz ohne spezifischen Anhalt
(Tier 32)
(Abbildungsmaßstab 500 :1)

VERSUCHSGRUPPE V

Makroskopischer Sektionsbefund der mit Nisin behandelten Meerschweinchen

Tier	Herz	Lunge	Nieren	Leber	Milz	Lymphknoten an der Injektionsstelle und parailiacal
41	o. B.	vereinzelt miliare Herde	o. B.	vereinzelt miliare Herde	zahlreiche, größere und kleinere konfluierende Herde	bohngengroß, Verkäsung
42	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt miliare Herde	vereinzelt miliare Herde	erbsengroß, Verkäsung
43	o. B.	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt miliare Herde	linsengroß, Verkäsung
44	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt miliare Herde	vereinzelt miliare Herde	linsengroß, nicht verkäst
45	Tier am 11. Tag nach der Infektion eingegangen					linsengroß, beginnende Verkäsung
46	o. B.	vereinzelt miliare Herde	o. B.	vereinzelt miliare Herde	zahlreiche, größere und kleinere Herde	erbsengroß, Verkäsung
47	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt miliare Herde	zahlreiche, größere und kleinere Herde	erbsengroß, beginnende zentrale Verkäsung
48	Tier am 15. Tag nach der Infektion eingegangen					
49	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt miliare Herde	vereinzelt miliare Herde	erbsengroß, zentrale Verkäsung
50	o. B.	o. B.	o. B.	vereinzelt miliare Herde	vereinzelt miliare Herde	linsengroß, Verkäsung



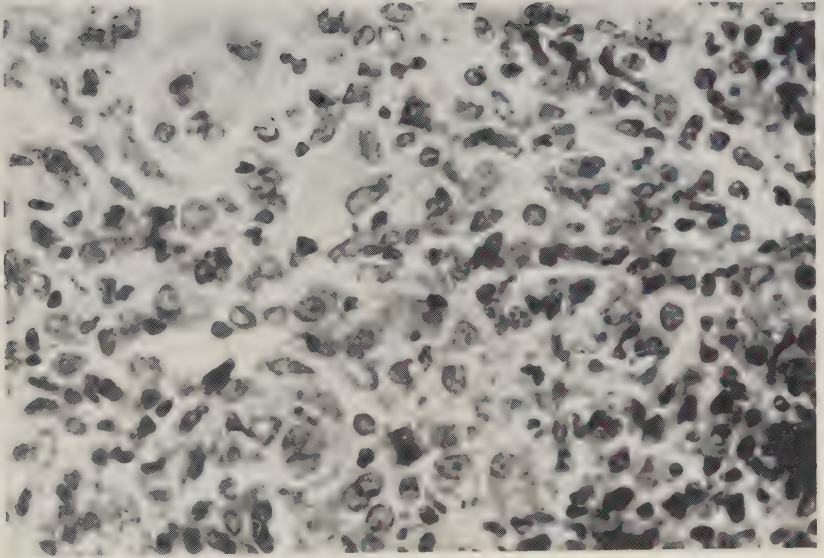


Bild 9: Epitheloidzellige Tuberkulose der Milz (Tier 50)
(Abbildungsmaßstab 500 : 1)

Leber:

Nur bei Tier 14 ließen sich einzelne miliare Herde in den Glisson'schen Dreiecken erkennen. Alle anderen Tiere zeigen ein regelrechtes histologisches Bild ohne Anhalt für eine Tuberkulose.

Milz:

Bei allen Tieren besteht eine unspezifische Entzündung (vorwiegend der Milz-follikel) mit einer erheblichen Reticulum-Schwellung. Die Tiere 14 und 16 weisen neben diesen Veränderungen noch einige wenige epitheloidzellige Knötchen auf. Eine Darstellung der unspezifischen Veränderungen gibt Bild 4.

Herz:

Die histologischen Schnitte sind ohne tuberkulöse Veränderungen.

Nieren:

Ein kleiner Tb.-Herd ist bei Tier 20 zu erkennen. Sämtliche anderen Tiere zeigen keine tuberkulösen Veränderungen.

Histologische Organveränderungen der Tiere der Gruppe III

Lunge:

Bei dieser Gruppe steht die epitheloidzellige Reaktion des Gewebes im Vordergrund. Langerhans'sche Riesenzellen sind reichlich vorhanden. Multiple kleine Herde beherrschen das histologische Bild bei den Tieren 23, 24, 28, 29, 30, während bei den übrigen Tieren sich nur einzelne, sehr kleine Herde feststellen lassen. Bild 5 veranschaulicht diese Veränderungen.

Leber:

Bei allen Tieren ist die Gewebsstruktur regelrecht.

Milz:

Die Milz weist in allen Fällen unspezifisch entzündliche Veränderungen auf. Sichere miliartuberkulöse Herde findet man vereinzelt nur bei den Tieren 24 und 29. Auffallend ist ferner bei allen Tieren eine geringgradige Fibrose. Die histologisch-tuberkulösen Veränderungen sind aus Bild 6 zu ersehen.

Herz:

Bei Tier 21 läßt sich ein kleines perivaskuläres Knötchen nachweisen; die Herzstruktur ist bei allen anderen Tieren ohne Besonderheiten.

Nieren:

Bei allen Tieren besteht kein Anhalt für eine Tuberkulose.

Histologische Organveränderungen der Tiere der Gruppe IV

Lunge:

Diffus über die Lunge verstreut findet man sehr kleine epitheloidzellige Herde. Der Befund ist sehr gering. Bei den Tieren 32, 36 und 39 läßt sich keine Tuberkulose nachweisen. Die tuberkulösen Veränderungen der Lunge sind in Bild 7 wiedergegeben.

Leber:

Bei allen Tieren weist die Leber keine tuberkulösen Veränderungen auf.

Milz:

Hier steht eine Fibrose im Vordergrund. Eine geringe unspezifische Entzündung ist zu erkennen. Die Follikel sind klein. Sichere tuberkulöse Herde finden sich bei diesen Tieren nicht. Die Veränderungen der Milz sind in Bild 8 abgebildet.

Herz:

Ohne tuberkulöse Veränderungen.

Nieren:

Ohne tuberkulöse Veränderungen.

Histologische Organveränderungen der Tiere der Gruppe V

Lunge:

Die Tiere 41 und 44 zeigen ausgedehnte tuberkulöse Veränderungen. Die Herde sind großflächig, konfluierend und mit Epitheloid- sowie Riesenzellen durchsetzt. Während die einzelnen, manchmal peribronchialen entzündlichen Herde bei den Tieren 42, 47, 49, 50 tuberkulöser Natur sind, ergibt sich bei dem Tier 45 kein Anhalt für eine Tuberkulose.

Leber:

Bei allen Tieren finden sich in den Glisson'schen Dreiecken miliare tuberkulöse Knötchen mit teilweise einer geringen zentralen Nekrose, starker epitheloidzelliger Reaktion und reichlichen Riesenzellen.

Milz:

Alle Tiere dieser Gruppe weisen eine ausgedehnte, teilweise konfluierende, epitheloidzellige Tuberkulose mit zahlreichen Riesenzellen auf. Die Herde sind diffus über das Milzgewebe verstreut (siehe Bild 9).

Herz:

Ohne tuberkulöse Veränderungen.

Nieren:

Ohne tuberkulöse Veränderungen.

Bei sämtlichen Tieren machte sich innerhalb der Versuchszeit ein geringer Gewichtsanstieg bemerkbar. Auf eine Wiedergabe im Einzelnen kann verzichtet werden, da keine regelmäßigen und signifikanten Differenzen bemerkt wurden.

Die Bestimmung des Hämoglobingehalts nach Sahli und die der Erythrozytenzahlen hat dagegen in den Mittelwerten Abweichungen bei den einzelnen Versuchstiergruppen ergeben. Zur besseren Übersicht sind die Änderungen des Hämoglobingehaltes und der Erythrozytenzahlen in Tabelle 6 aufgeführt.

Tabelle 6

Mittelwerte des Hämoglobingehaltes nach Sahli und der Erythrozytenzahlen/mm³ der unbehandelten und behandelten Versuchstiere.

Zeit	Versuchsg. I (unbehandelte Tiere)		Versuchs- gruppe II (Inhasan)		Versuchs- gruppe III (Inhasan u. Nisin)		Versuchs- gruppe IV (Inhasan, Nisin und CoCl ₂)		Versuchs- gruppe V (Nisin)	
	Hb.	Ery. Mill/mm ³	Hb.	Ery. Mill/mm ³	Hb.	Ery. Mill/mm ³	Hb.	Ery. Mill/mm ³	Hb.	Ery. Mill/mm ³
Ausgangs- wert	75	5,1	81	5,3	78	4,9	73	5,1	79	4,9
7. Tag	72	4,9	80	5,2	76	4,8	74	5,0	77	5,0
14. Tag	76	4,7	78	5,4	77	5,0	76	5,3	74	4,7
21. Tag	71	4,3	80	5,5	76	4,7	78	5,4	75	4,4
28. Tag	68	4,3	87,5	5,1	72	4,4	80	5,6	67	4,2
35. Tag	67	4,1	76	4,9	70	4,0	82	5,7	64	4,0
42. Tag	58	3,9	70	4,7	70	4,0	85	5,6	65	3,8

G. DISKUSSION UND BESPRECHUNG DER VERSUCHS- ERGEBNISSE

Betrachtet man die makroskopischen Sektionsbefunde der unbehandelten Tiere in Tabelle I, so kann man feststellen, daß bei sämtlichen Tieren ausgedehnte tuberkulöse Veränderungen an den Organen und besonders an der Injektionsstelle mit ihren zugehörigen inguinalen und parailiakalen Lymphdrüsen bestehen. Die Tiere der Versuchsgruppe II, die mit Inhasan behandelt wurden, zeigten gleichfalls ausgeprägte tuberkulöse Veränderungen an der Injektionsstelle und den regionalen Lymphknoten. Der vereinzelte Befall der parailiakalen Lymphdrüsen deutet hier bereits an, daß eine tierexperimentelle Tb.-Infektion unter einer Inhasan-Behandlung von 50 mg/die/Tier nicht örtlich begrenzt bleibt, sondern die Tendenz zu einer Generalisation besitzt. Die gleiche Feststellung konnte auch bei der Versuchsgruppe III, die Inhasan in Kombination mit Nisin erhielt, getroffen werden. Die Versuchsgruppe IV, bei der die therapeutischen Maßnahmen der Kombinationsbehandlung noch durch einen Zusatz des tuberkulostatisch bzw. tuberkulozid wirkenden CoCl_2 arbeitshypothetisch verstärkt wurde, ließ neben einem tuberkulösen Befall der inguinalen Lymphdrüsen in einigen Fällen gleichermaßen eine Ausdehnung des Infektes auf die parailiakalen Lymphknoten sichtbar in Erscheinung treten. Die makroskopischen Sektionsbefunde der Nisin-behandelten Tiere der Versuchsgruppe V wiesen neben den unbehandelten Kontrolltieren an der Injektionsstelle, den inguinalen und iliakalen Lymphdrüsen sowie an den Organen die stärksten pathologischen Veränderungen auf.

Die durchgeführten Versuche betrafen nicht die steigende Resistenzbildung, sondern die Frage, ob die Kombinationsbehandlung mit Nisin und Inhasan sowie mit Nisin, Inhasan und CoCl_2 in der Lage ist, eine Generalisation der tierexperimentellen Tb.-Infektion zu verhindern.

Desweiteren war von Interesse, ob die genannten Substanzen sich in Kombinationen synergistisch oder antagonistisch verhielten. Dies machte wiederum Parallelversuche mit Nisin und Inhasan notwendig. Eine Beantwortung dieser Fragen war aus den makroskopischen Sektionsbefunden mit Sicherheit nicht möglich, wenn auch die Wirksamkeit des Inhasans sowie seiner beiden Kombinationen eindeutig besser zu sein schien als die des reinen Nisins. Einen endgültigen Aufschluß über eine eventuell stattgefundene Generalisation bei den Versuchsgruppen II, III, IV und V geben die histologischen Befunde. Vergleicht man die pathologisch-histologischen Veränderungen der Einzelorgane

der Versuchsgruppe I - V untereinander, so lassen sich hierbei bedeutsame Unterschiede hinsichtlich der tuberkulösen Veränderungen treffen.

Das histologische Bild der Lungen der unbehandelten Versuchsgruppe I zeigt eine vorwiegend epitheloidzellige Tuberkulose. In den befallenen Lungenabschnitten ist das Gewebe teils durch rundliche oder ovale Herde zerstört. Diese Herde haben häufig eine zentrale Nekrose und einen Lymphozytenwall und enthalten mehrkernige Langerhans'sche Riesenzellen. Die überwiegende Anzahl der Tiere weist bei einer Übersichtsvergrößerung etwa 10 solcher Herde pro Gesichtsfeld auf. Zahlenmäßig in gleicher Größenordnung finden wir diese Herde auch bei den Inhasan-behandelten Tieren der Versuchsgruppe II. Nur sind hier die Herde wesentlich kleiner, so daß sie sich der makroskopischen Beurteilung entziehen. Riesenzellen und eine zentrale Nekrose dieser Herde konnten nur bei wenigen Tieren nachgewiesen werden. Der Lungenbefund der mit Nisin und Inhasan in Kombination behandelten Tiere der Versuchsgruppe III war noch schwächer und entsprach bei 5 Tieren dem Bild der geringsten Lungenveränderungen der Versuchsgruppe II. Bei den übrigen Tieren waren nur sehr kleine epitheloidzellige Herde mit zahlreichen Riesenzellen erkennbar. Die histologischen Lungenschnitte der Versuchsgruppe IV, die Inhasan in Kombination mit Nisin und CoCl_2 erhalten hatten, zeigten den geringsten Tb.-Befall, der vorwiegend aus sehr kleinen epitheloidzelligen Tb.-Herden bestand. Nicht so günstig schien sich dagegen die Nisintherapie auszuwirken. Das Lungengewebe der Tiere der Versuchsgruppe V war von ausgedehnten, konfluierenden, Epitheloid- und Riesenzellen enthaltenden Herden durchsetzt. Allerdings war das Gesamtbild der Veränderungen etwas schwächer als bei den unbehandelten Kontrolltieren.

Vergleicht man die histologischen Bilder der Leberschnitte der einzelnen Tiergruppen untereinander, so ist auch hierbei eine Abstufung der pathologisch-histologischen Veränderungen erkennbar. Bei der unbehandelten Kontrollgruppe I findet man vorwiegend in den Glisson'schen Dreiecken lokalisiert diffus verstreute miliare Tb.-Herde. Allerdings fand sich bei Tier 10 kein Anhalt für eine Tuberkulose. Dieser Befund kann jedoch zufallsbedingt durch eine an ungünstiger Stelle vorgenommene Lebermaterialentnahme entstanden sein. Die histologischen Leberschnitte der mit Inhasan behandelten Versuchsgruppe II wiesen mit Ausnahme eines Tieres keine Tb.-Veränderungen auf. Bei den Tiergruppen II und III, die unter der Kombinationstherapie gestanden hatten, war kein pathologischer Leberbefund zu erheben. Dagegen waren wiederum die histologischen Veränderungen der mit Nisin behandelten Versuchsgruppe V sehr ausgeprägt. In den Glisson'schen Dreiecken waren miliare, epitheloid-

zellige Tuberkel mit Riesenzellen und teilweise einer zentralen Nekrose zu erkennen. Allerdings war auch hier die Ausdehnung der Tuberkulose geringer, als bei den unbehandelten Tieren der Gruppe I.

Bemerkenswert waren auch die histologischen Bilder der Milz, die bei einer tierexperimentellen Tuberkulose gleichfalls sehr stark betroffen wird, falls nicht geeignete therapeutische Maßnahmen dies verhindern. Bei der unbehandelten Kontrollgruppe I waren ausgedehnte, teilweise konfluierende epitheloidzellige tuberkulöse Knötchen mit zahlreichen Riesenzellen diffus über das Milzgewebe verstreut. Die Inhasan-behandelten Tiere der Gruppe II zeigten dagegen nur eine unspezifische Entzündung mit einer erheblichen Retikulum-Schwellung. Lediglich bei 2 Tieren waren einige wenige epitheloidzellige Herde erkennbar. Auch bei den Tieren der Versuchsgruppe III, denen Inhasan und Nisin verabreicht worden war, traten die gleichen unspezifischen entzündlichen Veränderungen in Erscheinung. Auffallend war bei dieser Gruppe noch weiterhin eine geringgradige Fibrose. Sichere miliar-tuberkulöse Herde konnten nur bei 2 Tieren beobachtet werden. Diese geschilderten unspezifischen Entzündungserscheinungen waren dagegen bei den Tieren der Versuchsgruppe IV, die neben dem Nisin und Inhasan gleichzeitig noch CoCl_2 appliziert bekamen, bedeutend geringer. Im Vordergrund stand hier jedoch die Fibrose. Tuberkulöse Herde waren nicht nachweisbar. Die Ursache der unspezifischen Entzündungen der Milz ist wahrscheinlich auf eine Toxizität des Inhasans zurückzuführen. Kimmig (46) berichtet zwar von einer guten Verträglichkeit des Inhasans in Tierversuchen bei einer Dosierung von 400 mg/kg/die. Renovanz (67) gibt dagegen die tägliche Gebrauchsdosis mit 100 mg/kg an. Von beiden Autoren liegen jedoch keine exakten Angaben über den histologischen Milzbefund vor, die unsere Annahme entkräften würden. Bei den unbehandelten Kontroll- und den Nisin-behandelten Tieren war dagegen diese unspezifische Entzündung nicht feststellbar, so daß toxische Tb.-Stoffwechselprodukte hierfür nicht verantwortlich gemacht werden können. Ebenfalls war trotz gleichen Inhasangehaltes die unspezifische Entzündung unter den Kombinations-therapie mit Inhasan, Nisin und CoCl_2 geringer. In diesen Fällen überwog histologisch das Bild einer Fibrose. Gewebsveränderungen in diesem Sinne sind jedoch bei der Applikation größerer Kobaltmengen beschrieben worden (30). In den histologischen Herzschnitten konnten lediglich bei je einem Tier der Versuchsgruppe I und III geringe tuberkulöse Veränderungen nachgewiesen werden. Bei sämtlichen anderen Tieren der Versuchsgruppen I - V war kein pathologisch-histologischer Herzbefund zu erheben. Desgleichen waren die Nierenschnitte mit Ausnahme je eines Tieres der Kontrollgruppe I und der Gruppe II

frei von tuberkulösen Veränderungen. Die wesentlichste Frage dieser Untersuchungen betrifft die Signifikanz der gewonnenen Ergebnisse. Für eine statistische Sicherung der Befunde ist das Tiermaterial zu klein. Andererseits dürfte es aber auch bei Verwendung eines größeren Untersuchungsgutes schwer sein, das Ausmaß der makroskopisch und histologisch sichtbaren tuberkulösen Veränderungen zahlenmäßig festzuliegen. Einzig und allein ist für eine statistische Erfassung die verlängerte Überlebenszeit unter verschiedenen Therapieformen leicht zugänglich. Da die tierexperimentelle Tuberkulose, bei der 7 Wochen auf Grund der hohen injizierten Keimzahl und der großen Empfindlichkeit der gewählten Tiere gegenüber der Tuberkulose bedeutsam sind, in keiner Weise mit der meist langsam verlaufenden Tbc. des Menschen vergleichbar ist, erhebt sich die Frage, ob es sich lohnt mit einem kaum erschwinglichen Aufwand ein Ergebnis zu sichern, das letzten Endes doch nicht auf den Menschen übertragbar ist. Im Rahmen der durchgeführten Versuche ist es deswegen wichtiger, das Ausmaß der tuberkulösen Veränderungen bei den Versuchs- und Kontrolltieren makroskopisch und histologisch zu vergleichen. Bei der abschließenden Beurteilung ist besonders zu berücksichtigen, daß eine Besserung des therapeutischen Erfolges bei einer foudroyant verlaufenden experimentellen Tuberkulose sich schwerer erreichen läßt als gemeinhin bei der Tuberkulose des Menschen. Es wurde deshalb bewußt auf eine Bestimmung der Überlebenszeit verzichtet und der Versuch nach einer 7-wöchigen Behandlung abgebrochen, also nach einer Zeit, die uns für eine experimentelle Tuberkulose mit hoher Injektions-Keimzahl ausreichend erschien. Die genaue Erfassung der Sektionsbefunde, d. h. des Ausmaßes der tuberkulösen Veränderungen, ergab so deutliche, vor allem von Gruppe zu Gruppe so einheitliche Unterschiede, daß diese Ergebnisse - wenn auch nicht zahlenmäßig fixierbar - doch ausreichen, um die Wahrscheinlichkeit ihrer Signifikanz anzunehmen.

Vergleicht man die Gesamtergebnisse der einzelnen Versuchsgruppen miteinander, so zeigt die Kombinationstherapie mit Nisin, Inhasan und CoCl_2 den besten Behandlungserfolg. An zweiter Stelle hinsichtlich eines Therapieerfolges steht die Kombinationsbehandlung mit Inhasan und Nisin und erst an dritter Stelle die reine Inhasantherapie. Die von uns verabreichte tägliche Menge von 50 mg Inhasan pro Tier reichte nicht aus, um eine Generalisation der Tuberkulose bei der gewählten hohen Infektionsdosis zu verhindern. Eindeutig war dies jedoch auch nicht bei der Kombinations-Behandlung der Fall. Die reine Nisin-Therapie war nicht sehr erfolgversprechend, was jedoch auch nicht zu erwarten war, weil das Nisin spätestens nach 5 Stunden aus dem Or-

ganismus ausgeschieden ist, wenn keine neue Applikation erfolgt. Von der Aufrechterhaltung eines Nisinspiegels haben wir jedoch Abstand genommen. Das wesentliche der Untersuchungen ist, daß das Nisin sich in der Kombinationstherapie nicht antagonistisch, sondern synergistisch gegenüber dem Inhasan verhält. Die gleiche Feststellung läßt sich auch für die Kombination mit CoCl_2 treffen.

Die Gewichtsbestimmung der Tiere jeder Versuchsgruppe ergaben im Vergleich der Tiergruppen untereinander keine signifikanten Differenzen, so daß sie für die Beurteilung nicht herangezogen werden können. Anders dagegen verhielten sich die Bestimmungen des Hämoglobins und der Erythrozytenzahlen. Die Erythrozytenzahlen der einzelnen Tiergruppen sanken mit Ausnahme der zusätzlich mit Kobalt behandelten Tiere während der Versuchsdauer ab. Die gleiche Beobachtung ließ sich auch bei der Auswertung der Hämoglobinzahlen treffen. Dies bestätigt den allgemein stimulierenden Effekt des Kobalts auf das rote Blutbild, was vielleicht sekundär die Abwehrkräfte des Organismus unterstützt bzw. mobilisiert.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Behandlung der Tuberkulose ist trotz der Schaffung sehr wirksamer chemotherapeutischer Stoffe immer noch ein Problem, weil entweder die für den Organismus toxische Dosis - wie z. B. beim Streptomycin - sehr schnell erreicht wird oder die Tb. - Bakterien resistent werden. Selbst bei Verwendung des sehr wirksamen Isonikotinsäurehydrazids lassen sich spätestens nach 12 Wochen Resistenzerscheinungen beobachten. Es ist deshalb notwendig, nach neuen tuberkuloziden Verbindungen und Kombinationspräparaten zu suchen. In tierexperimentellen Untersuchungen wurden zwei Substanzen, und zwar das weniger toxische Isonikotinsäure-Derivat "Inhasan" und der aus *Streptococcus lactis* gewonnene antibakterielle Wirkstoff "Nisin" auf ihre therapeutische Wirkung gegenüber einer Tuberkulose-Infektion geprüft. Nach den bisher vorliegenden Literaturangaben besitzen beide Präparate eine gute tuberkulozide Eigenschaft. Von Interesse war ferner, ob sich durch eine Kombination beider der therapeutische Erfolg verbessert. In einer weiteren Tierserie wurde diese Kombinationstherapie noch zusätzlich durch CoCl_2 ergänzt, das neben seinen komplexbildenden Eigenschaften das hämatopoetische System stimuliert und den Tb. - Verlauf günstig beeinflusst. Nach Versuchsabschluß ergab sich makroskopisch bei der Tiersektion, daß die mit Inhasan, Inhasan-Nisin und mit Inhasan-Nisin- CoCl_2 behandelten Tiere außer an der Injektionsstelle mit ihren regionalen und parailiacalen Lymphdrüsen keine tuberkulösen Veränderungen aufwiesen. Bei den mit Nisin behandelten Tieren war der makroskopische Befund nicht so günstig. Die histologischen Untersuchungen von Herz, Leber, Lunge, Milz und Nieren sprachen jedoch nicht dafür, daß sich eine Generalisation der Tuberkulose in den tierexperimentellen Untersuchungen mit einer hohen Infektionsdosis vollkommen verhindern läßt. Die geringsten histologisch-tuberkulösen Veränderungen waren unter der Kombinationstherapie Inhasan-Nisin- CoCl_2 zu verzeichnen. Gleichfalls günstige Resultate erbrachte auch die Kombination Inhasan und Nisin. Dies bedeutet, daß sich beide Verbindungen synergistisch verhalten. Auch bei den mit Nisin behandelten Tieren waren die histologischen Veränderungen geringer als bei den unbehandelten Kontrolltieren. Jedoch waren diese Unterschiede nicht sehr wesentlich. Unter der Kombinationstherapie mit CoCl_2 trat kein Abfall des Hämoglobingehaltes und der Erythrocytenzahlen während des Infektionsverlaufs ein.

LITERATUR

- 1) Aitoff, M. et Salas, A. Ann.Past. 83, 273 (1952)
- 2) Barby, V.G., Conalty, M.L. and Gaffney, E. Lancet I/XX, 978 (1953)
- 3) Bauer, H.M. Über die antibakterielle und antivirologische Wirkung von Nisin, einem antibakteriellen Stoffwechselprodukt von *Strept. lactis*.
Inaug.Diss. Universität Mainz (1958)
- 4) Bavin, E.M. and Beach, A.S. Lancet, 129 (1952)
- 5) Berridge, N.J. Biochem. J. 45, 486 (1949)
- 6) derselbe Nature 169, 707 (1952)
- 7) Berridge, N.J. and Barret, J. J. gen. Microbiol. 5, 830 (1951)
- 8) dieselben Nature 167, 448 (1951)
- 9) Berridge, N.J., Newton, G.G. and Abraham Biochem. J. 52, 529 (1952)
- 10) Bernstein, J., Steinberg, Lott and Yale zit. Mordasini, E.R. Tuberculostatica und moderne Tuberkulosebehandlung B. Schwabe-Verlag, Basel (1952)
- 11) Bertrand, G. et Macheboeuf, M. C.R. Acad. Sci. 39, 942 (1925)
- 12) Brouet, G. Halpern, B.N. et Marcha Presse med. 61, 863 (1953)
- 13) Brockhaus, J. Dtsch. med. Wschr. 926 (1954)
- 14) Brügger, H. Tuberk. Arzt 10, 339 (1956)
- 15) Canal, N. u. Garrattini Arzneimittelforsch. 7, 158 (1957)
- 16) Carlson, S. u. Bauer, H.M. Arch. Hyg. 141, 445 (1957)
- 17) Coletsos, P.J. Rev. Tuberc. 16, 670 (1952)

- 18) Dieckhoff, J. Münch. med. Wschr. 96, 926 (1954)
- 19) Domagk, G. Chemotherapie d. Tuberkulose mit Thiosemikarbazonen, Georg Thieme Verlag, Stuttgart(1950)
- 20) Domagk, G., Behnisch, R., Mietzsch, F. u. Schmidt, H. Naturwissenschaften 33, 315 (1946)
- 21) Domagk, G., Offe, H. A. und Siefken, W. Beitr. Klin. Tuberk. 107, 325 (1952)
- 22) Ehrlich, P. XVII. Intern. Congr. Med. London 1913
- 23) Geldman, W. H. and Hinshaw, H. C. Proc. Mayo Clin. 19, 593 (1944)
- 24) Fox, H. H. and Gibas, J. T. J. organ. Chem. 17, 1653 (1952)
- 25) Fust, B. Schweiz. med. Mschr. 82, 333 (1952)
- 26) Fust, B., Studer, A. und Böhni, E. Schweiz. Z. Tuberk. 9, 226 (1952)
- 27) Fust, B. und Böhni, E. Schweiz. med. Wschr. 83, 377 (1953)
- 28) Gillissen, G. Z. Hyg. InfektKr. 138, 321 (1954)
- 29) derselbe ibidem 134, 173 (1952)
- 30) derselbe Arch. Hyg. 137, 161 (1953)
- 31) derselbe Z. Imm. Forsch. 111, 187 (1954)
- 32) Gillissen, G. und Hausmann, R. Ärztl. Forsch. IX, 101 (1955)
- 33) dieselben Pharmazie II, 293 (1956)
- 34) Glauner, W. Tuberk. Arzt. 4, 162 (1950)
- 35) Gowans, F. L., Smith and Florey, H. W. Brit. J. Pharmacol. 7, 438 (1952)
- 36) Grünberg, E. and Schnitzer, R. J. Quart. Bull. Sea View Hosp. 13, 3 (1952)
- 37) Hartmann, B. Süddtsch. Tbk. -Gesellsch., Lindau (1955)

- 56) McPherson, H. G. and Stewart, J. Biochem. J. 32, 763 (1958)
- 57) Mattick, A. T. R. and Hirsch, A. Nature 154, 551 (1944)
- 58) dieselben Lancet 153, 5 (1947)
- 59) Meissner, G. Z. Hyg. InfektKr. 139, 489 (1954)
- 60) dieselbe Beiträge klin. Tuberk. 113, 62 (1955)
- 61) Middlebrock, G. Amer. Rev. Tuberc. 65, 765 (1952)
- 62) Morelli, E. M. et Daddi, G. Sci. ital. Tuberc. 6, 119 (1952)
- 63) Offe, H. A., Siefken, W. und Domagk, G. Z. Naturforsch. 7 b, 462 (1952)
- 64) Pelzer, K. Neue med. Welt 1111 (1950)
- 65) Pitini, A. et Messina, V. zit. Weissbecker, L. (78)
- 66) Quastel, J. and Cantero, A. Nature 171, 252 (1953)
- 67) Renovanz, H. D. Münch. med. Wschr. 100, 1852 (1958)
- 68) Rist, N. und Grumbach, F. C. R. Soc. Biol. 146, 564 (1952)
- 69) Rogers, L. A. J. Bact. 16, 321 (1921)
- 70) Rondoni, P. zit. Gillissen, G. (30)
- 71) Schatz, A. and Waksman, S. A. Proc. Soc. exp. Biol. N. Y. 57, 244 (1944)
- 72) Spiess, H. 52. Tag. Dtsch. Gesell. Kinderheilk. Bayreuth (1952)
- 73) Südhoff, H., Kröger, E. und Kellner, H. Dtsch. med. Wschr. 82, 722 (1957)
- 74) Tanner, E., Nigoghossian und Wehrlein, H. Praxis 48, 1042 (1952)
- 75) Villaret, M. et Bertrand, J. C. R. Soc. Biol. 108, 956 (1931)
- 76) Wada zit. Gillissen, G. (30)

- 77) Waltner, K. und Waltner K. zit. Gillissen, G. (30)
- 78) Weissbecker, L. Beihefte med. Mschr. 9 (1950)
- 79) Wilberg, Ch. Münch. med. Wschr. 1373 (1950)
- 80) Wiesmann, E., Wanner, I. Schweiz. med. Wschr. 82, 785 (1952)
 und Tanner, E.

Besonderen Dank möchte ich an dieser Stelle den Herren Privatdozenten Dr. Sven Carlson und Dr. Josef Ruckes aussprechen, deren Unterstützung diese Arbeit ermöglicht hat.

LEBENS LAUF

Am 2.10.1918 wurde ich Gordon A. Toby in Tobago (Brit. Westindien) geboren. Bis zu meinem 12. Lebensjahr besuchte ich die Volksschule in Tobago. Anschließend kam ich auf die "Bishop's High School" in Tobago und machte später am "St. Mary's College" Trinidad mein Cambridge School Certificate. Nach meiner Abschlußprüfung studierte ich Pharmazie und erlangte 1941 mein Diplom (West Indien). 1950 wurde ich B. Sc. (Biologie) an der Howard - University, Washington, D. C. Später habe ich mein Medizin-Studium in Montpellier begonnen. Mein Studiengeld habe ich zwischenzeitlich als Pharmazeut an einer Apotheke in London verdient. Im Sommersemester 1956 wechselte ich an die Universität Mainz und habe dort 1959 mein medizinisches Staatsexamen abgelegt.

GESAMTHERSTELLUNG: .

DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66

